

9 8 3 7 腎ネフロンセグメント発現遺伝子データベースを用いた腎臓における塩排出・再吸収の分子機構の検討

助成研究者：今井 圓裕 (大阪大学大学院 医学研究科 病態情報内科学)
 共同研究者：竹中 優 (大阪大学大学院 医学研究科 病態情報内科学)
 大久保 公策 (大阪大学 細胞生体工学センター)

マウス腎より近位尿細管(PT)あるいは髓質集合管(IMCD)を microdissection 法により計約18cm および20cm 単離し mRNA を抽出した。大久保らの変法・岡山/Berg 法により cDNA^{3'} 端の library 作成の後、大腸菌に transform した。得られたクローンを 1000 あるいは 2000 個ランダムに選択し DNA 配列を同定した。同じ配列の出現回数から相対的な発現量を得、同様の手法により構築されたデータベースと比較しコンピュータ上で subtraction を行うことでまず PT に主に発現している遺伝子群を同定した。内、2つのクローン GS4001 と GS4059 についてノーザン解析および in situ ハイブリダイゼーション法により腎臓にはほぼ特異的な発現と腎近位尿細管における発現を確認した。全長クローニングにより GS4001 は aspartic proteinase の新しいファミリーである事、GS4059 は未知の遺伝子である事が明らかとなった。また、PT 発現遺伝子データベース中にマウス uroguanylin(UG)を見出し in situ ハイブリダイゼーション法により腎皮髄境界の近位尿細管相当部位での発現を確認した。同遺伝子は腸管および腎臓における NaCl と水の排泄を制御していると考えられている。我々は72時間脱水において腎臓における UG mRNA 発現は有意に誘導されるが腸管では変化しない事、急性 NaCl 負荷においては腎・腸管での同 mRNA 発現が変化しない事を認めた。さらに、胎生期および生後腎における発現を in situ ハイブリダイゼーション法により検討した。胎生14・16・18日では腸管での強い UGmRNA 発現を認めたが腎臓では認めず、出生後14日頃より急速な発現誘導があることを明らかにした。出生直後のマウスは腎臓での Na handling が未成熟である事が知られており本遺伝子は腎臓における尿管機能の成熟に関係するのかもしれない。また、IMCD 発現遺伝子データベースを構築し1600種類以上の遺伝子発現を確認した。また、IMCD で最も発現量の多い遺伝子はαB-crystallin であることを見出した。これらの検討により、腎尿管における遺伝子発現データベースの構築は腎臓機能の解析に有用である事が示された。

9837 腎ネフロンセグメント発現遺伝子データベースを用いた腎臓における 塩排出・再吸収の分子機構の検討

助成研究者：今井 圓裕 (大阪大学大学院 医学研究科 病態情報内科学)
共同研究者：竹中 優 (大阪大学大学院 医学研究科 病態情報内科学)
大久保 公策 (大阪大学 細胞生体工学センター)

1. 研究目的

腎臓は生体内の内部環境を維持するのに重要な働きをしている。様々な生理的状态に反応してNaClをはじめ多くの溶質と水を排泄あるいは吸収する。人の腎臓は約100万のネフロンより構成されており各ネフロンは機能の違いにより、いくつかのセグメントに分けられる。それぞれのネフロンセグメントは各々、特異的な機能を有しながら腎臓全体として適切に働いている。この様な腎臓のユニークな機能は各ネフロンセグメントに発現するhouse-keeping遺伝子群とともに、ネフロンセグメント特異的な遺伝子群の発現・調節によりもたらされていると考えられる。本研究において我々は1；腎臓の各ネフロンセグメントに発現している遺伝子群のデータベースを構築すること、2；他の組織において構築された同様の遺伝子データベース情報と比較することにより、各ネフロンセグメント特異的な遺伝子を同定・解析し、腎臓におけるNaClをはじめとする溶質の排泄あるいは吸収の機構を明らかにすることを目的としている。

2. 研究方法

大阪大学細胞生体工学センターの大久保らが、各組織・細胞からmRNAを抽出cDNAを合成後、直接プラスミドベクターにクローニングシランダムにピックアップした1000クロンのDNA配列を同定し、当該組織における遺伝子発現をデータベース化する方法を開発した [1] [2]。PCR等の操作をせず直接cDNAをクローニングする事により、1000クロンにおけるDNA配列の出現頻度はmRNA発現量を反映すると考えられ、ある細胞における定量的な遺伝子発現量に関する情報も同時に得られる。我々はマウス及び人の種々の臓器、細胞における発現遺伝子の種類及び発現頻度の情報データベースを構築しつつあり、既に一万を超える発現遺伝子情報を保持している。マウス腎ネフロン・セグメントmRNAより得られたcDNA配列をコンピューター上で他の臓器における発現遺伝子情報データベースと比較することにより簡便にサブトラクションを行うことが可能である。我々はマイクロダイセクション法により実体顕微鏡下でマウス腎近位尿細管および髓質集合管をそれぞれ約18cmと約20cm集め、本法により解析を行った。また、作成された発現遺伝子情報データベース(expression profile)を他組織・細胞における同様のデータベースと比較し、近位尿細管expression profileにのみ認められた遺伝子を複数同定した。同遺伝子群を複数クローニングし、mRNA発現をNorthern blot法あるいはin situハイブリダイゼーション法により検討した。

3. 研究結果

3.1 マウス正常腎近位尿細管発現遺伝子データベースの構築と解析

マウス正常腎近位尿細管発現遺伝子データベース(expression profile of proximal tubule)を構築し、646種類の遺伝子の発現を確認した。内196クローンは既知の遺伝子で残りは現在までのところ未知の遺伝子であった。他臓器の同様のデータベースと比較しコンピューターサブトラクションを行い近位尿細管に多く発現している遺伝子群を同定した。3回以上データベースに出現した遺伝子について近位尿細管に発現している量の多い順に24種類の遺伝子を示す(Table 1)。複数の遺伝子についてNorthern解析を行いexpression profile上、近位尿細管にのみ発現が多く確認された遺伝子はノーザンプロットにおいても腎臓に多く発現が認められることを確認した。GS4001とGS4059の結果をFig.1に示す。それぞれGS4001は肺、脾にGS4059は肝臓に弱い発現を認めるものの主に腎臓に発現が見られる [3]。

3.1.1 GS4001のクローニングと解析

GS4001cDNAの全長クローニングを行いDNA配列を同定した。GS4001は近位尿細管特異的なレニン類似のaspartic proteinaseの遺伝子ファミリーである事が明らかとなった(Fig. 2)。GS4001の腎臓におけるin situハイブリダイゼーションの結果をFig. 3Aに示す。腎臓皮髄境界を中心にして皮質にかけて強い発現を認めた。データを示していないが強拡大では近位尿細管に一致したシグナルを確認している。

3.1.2 GS4059のクローニングと解析

GS4059 cDNAの全長クローニングを行い300アミノ酸をコードする配列を決定した。GenBank等の遺伝子データベースに対しFASTA解析を行ったが相同性のある遺伝子は見い出せず未知の遺伝子であった。GS4059の腎臓におけるin situハイブリダイゼーションの結果をFig. 3Cに示す。本遺伝子は腎皮質全域に発現が認められた。

3.1.3 GS4068 (mouse uroguanylin)の腎近位尿細管での発現およびその解析

さらに腸管で主に発現しcGMPを介して腎でのNaClの排泄を調節していると考えられているウログアニリンが近位尿細管で発現している事を近位尿細管expression profile中(GS4068)に見出した [4]。in situハイブリダイゼーション法により腎皮髄境界を中心とした近位尿細管に発現を確認した(Fig. 4)。糸球体における発現は認めなかった(data not shown)。本遺伝子は72時間脱水により腎臓において有為な発現誘導を認めたが、腸管においては発現量に変化を認めなかった(Fig. 5 A,B)。また、NaCl負荷を行っても腎・腸管において同遺伝子の発現量は変わらなかった(Fig. 5 C,D)。GS4068 (mouse uroguanylin)の発現を胎生期においてin situハイブリダイゼーション法およびNorthern blot法により検討した。その結果、以下のことが明らかとなった(Fig. 6 A, B)。

・ mouse uroguanylinは胎生16日には腸管で発現を認め以後、出生にいたるまで同様

であった。一方、胎生期腎臓での発現は腸管に比し極めて弱く、出生直後(P0)において微弱な発現を認めるのみであった(Fig. 6A)。

・ 出生後、腎臓におけるuroguanylin mRNA発現はP14頃より徐々に誘導されることが明らかとなった (Fig. 6B)。

3.2 マウス正常髄質集合管(IMCD)における発現遺伝子データベースの構築

マウス腎臓より髄質集合管を実体顕微鏡下で約20cm回収しmRNAを抽出後、上述の方法により計2000クローンのDNA配列を決定しIMCD発現遺伝子データベース(expression profile)を構築した。約1600種類の遺伝子発現を確認し、IMCDにおいて最も発現量の多い遺伝子は α B-crystallinである事を明らかにした(表2) [5]。

4. 考察

マイクロダイセクション法によりマウス正常腎近位尿細管および髄質集合管を実体顕微鏡下に収集しmRNAを回収後、遺伝子データベースを構築した。近位尿細管において646種類の遺伝子をまた髄質集合管において1600種以上の遺伝子発現を確認した。近位尿細管expression profileを他の組織における同様のprofilesと比較し、近位尿細管により多く発現している遺伝子群を同定した。GS4001は近位尿細管優位に発現を認めるaspartic proteinaseであることが明らかとなった。図2に示すように本遺伝子はレニンあるいはcathepsin Dと相同性を認め腎臓内における機能解析の結果が待たれる。GS4059は本稿執筆時点においてもFASTA解析で類似の遺伝子を認めず蛋白配列モチーフも同定し得なかった。近位尿細管において発現量が豊富であるにも関わらず、機能が未知な遺伝子が多くあることが明らかとなった。近位尿細管expression profileの解析より腸管ペプチドとして同定されていたuroguanylinが近位尿細管に発現する事を認め、in situハイブリダイゼーション法により確認した[4][6]。同遺伝子産物は循環血液中に存在し血行を介して腎臓におけるNaClおよび水の排泄を調節しているという仮説が提唱されている[7] [8] [9]。しかしながら、我々の検討では腎臓・腸管におけるmRNA発現量はNaCl負荷によって変化しない(Fi.5)。また3日間の脱水において腎臓でのmRNA発現量が有為に増加するが腸管においては発現量に変化を認めない。脱水状態においては生体はNaCl、水の再吸収を積極的に行っていると考えられ、腎臓において発現しているuroguanylinの生理的な機能の同定は今後の検討が必要である [4]。同遺伝子は胎生期の腎臓には発現を認めず、出生後約2週間で発現が増強する (Fig. 6)。マウス腎臓は出生後も成熟過程にあり尿細管機能が未熟である事が知られている。本遺伝子は腎臓発生過程ではなく近位尿細管機能の成熟に関連して発現が増強するものと考えられた。

マウス髄質集合管expression profileを作成し、同部位では目のレンズ蛋白として同定されsmall heat shock蛋白であることが明らかとなった α B-crystallinの発現が最も多いことが示された。本遺伝子を導入するとin vitroの系において高浸透圧に対して細胞保護作用があることが報告されている [10] [11]。髄質集合管は腎臓内で高浸透圧環境にさらされており α B-crystallinが同部位における細胞機能保持に関与している可能性を示唆する。また、レンズ蛋白が発現することによりレンズ様の外観を呈する事が知られており [12]、

本遺伝子の発現量が多いことが腎髄質内層のガラス様の特徴的な外観をもたらしている可能性もある。

5. 今後の課題

腎臓におけるexpression profileの構築・解析により他臓器に比し腎尿細管優位に発現する遺伝子群が同定された。今後、数百クローン以上にのぼる未解析の遺伝子群を順次解析し、今までに知られていない遺伝子の腎臓内における機能をNaCl排泄・再吸収を中心に明らかにしていくことが必要とされる。

6. 文献

1. Okubo K, Hori N, Matoba R, Niiyama T, Fukushima A, Kojima Y, Matsubara K: Large scale cDNA sequencing for analysis of quantitative and qualitative aspects of gene expression. *Nature Genet.* 2: 173-179, 1992
2. Okubo K, Yoshii J, Yokouchi H, Kameyama M, Matsubara K: An expression profile of active genes in human colonic mucosa. *DNA Res* 1: 37-45, 1994
3. Takenaka M, Imai E, Kaneko T, Ito T, Moriyama T, Yamauchi A, Hori M, Kawamoto S, Okubo K: Isolation of genes identified in mouse renal proximal tubule by comparing different gene expression profiles. *Kidney Int.* 53: 562-572, 1998
4. Takenaka M, Imai E, Fukunaga M, Kawada N, Kitamura H, Kaneko T, Nagasawa Y, Moriyama T, Yamauchi A, Horio M, Hori M, Kawamoto S, Okubo K: Mouse uroguanylin is localized in the kidney outer medulla and regulated by dehydration. *Clin. Exp. Nephrol.* in press.
5. Takenaka M, Imai E, Nagasawa Y, Moriyama T, Kaneko T, Hori M, Kawamoto S, Okubo K: Gene expression profiles of mouse renal inner medullary collecting duct. *Kidney Int.* in press.
6. Whitaker TL, Witte DP, Scott MC, Cohen MB: Uroguanylin and guanylin: distinct but overlapping patterns of messenger RNA expression in mouse intestine. *Gastroenterology* 113: 1000-1006, 1997
7. Fonteles MC, Greenberg RN, Monteiro HS, Currie MG, Forte LR: Natriuretic and kaliuretic activities of guanylin and uroguanylin in the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 275: F191-197, 1998
8. Forte LR, Fan X, Hamra FK: Salt and water homeostasis: uroguanylin is a circulating peptide hormone with natriuretic activity. *Am. J. Kidney Dis.* 28: 296-304, 1996
9. Krause WJ, London RM, Freeman RH, Forte LR: The guanylin and uroguanylin peptide hormones and their receptors. *Acta Anat Basel* 160: 213-31, 1997
10. Head MW, Corbin E, Goldman JE: Coordinate and independent regulation of α B-crystallin and hsp27 expression in response to physiological stress. *J. Cell. Physiol.* 159: 41-50, 1994

11. Dasgupta S, Hohman T, Carper D: Hypertonic stress induces α B-crystallin expression. *Exp. Eye Res.* 54: 461-470, 1992
12. Clayton RM, Jeanny JC, Bower DJ, Errington LH: The presence of extralenticular crystallins and its relationship with transdifferentiation to lens. *Curr Top Dev Biol* 20: 137-51, 1986

Table 1. Expression profiles of renal proximal tubule, liver, decidua and NIH3T3 cells.

Abundant GS appearing more than three times in liver (L), decidua (D), NIH3T3 cells (3T1 and 3T2) and proximal tubule (PT) are listed in the descending order of occurrence in PT library. Acc#, accession number; sim, similarity; ML, match length.

GS	L	D	3T1	3T2	PT	Acc #	sim	ML	size	Definition
3978					17	M22810	91.4	93	98	kidney androgen-regulated protein mRNA
3591			9	16	L08059	95.2	84	89	89	Mus musculus gamma phosphorylase kinase γ -subunit (PHKG)
84	2	3	1	1	J03941	94.5	329	332	332	ferritin heavy chain (MFH).
471	5				X51942	97.8	46	54	54	phenylalanine hydroxylase (EC 1.14.16.1).
4045									33	
98	1	12	1	4	X61431	95.5	202	322	322	diazepam-binding inhibitor.
230	3	5	14	8	X06407	99.5	190	196	21	kd polypeptide under translational control.
441	1	1	2	4	X52940	98.6	70	78	78	COX7c1 cytochrome c oxidase VIIc (EC 1.9.3.1).
4001									220	
75	1				M29462	96.7	333	333	333	malate dehydrogenase.
124	2	1	2	1	X70847	98.6	286	286	286	adenine nucleotide translocase.
316	1	2	5	3	X51537	91.3	126	151	151	Rat ribosomal protein S20.
372	1	2			X06086	96.5	198	205	205	major excreted protein (MEP).
502	1		5	6	U11248	100	33	38	38	C57BL/6J ribosomal protein S28.
719	2	3	3	3	M93980	97.3	224	279	279	24.6 kda protein.
849	9	1	3	3	X53377	94.8	194	194	194	R.rattus ribosomal protein S7.
1030	1	2	2	3	D21252	99.7	312	313	313	mouse OSF-3.
1130	5				X15267	99.1	211	361	361	acidic ribosomal phosphoprotein PO.
3251									45	
4079					X06342	91	189	199	199	prostatic secretory glycoprotein (p12).
4091					L16919	93.6	391	402	402	3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta-5-delta-4 isomerase mRNA.
4063					M29853	85.4	287	287	287	Rat cytochrome P-450 isozyme 5 (P450 IVE2) mRNA.
3991									274	
4096									97	

Table 2. Expression profiles of IMCD, liver, proximal tubules and NIH3T3 cells. GS appearing more than three times or two times for known genes in liver (L), inner medullary collecting duct (CD), proximal tubules (PT) and NIH3T3 cells (3T1 and 3T2) are listed in the descending order of occurrence in IMCD library. Acc#, accession number; sim, similarity.

GS	size	L	CD	PT	3T1	3T2	Acc#	sim	Definition
	817	144	0	8	0	0	M63170	100	Mouse alpha-B crystallin mRNA.
	80	385	1	4	0	0			
	187	248	1	4	0	1	X57961	99	M.musculus mRNA for ribosomal protein L7.
	445	79	1	4	2	4	X60289	96	M.musculus mRNA for ribosomal protein S24.
	461	67	2	4	1	1	5		
	467	56	4	4	1	5	X57007	85	Rat mRNA for ribosomal protein L38.
	802	191	0	4	0	6	X15962	100	Mouse mRNA for ribosomal protein S12.
	4294	147	0	4	1	0	0		
	184	241	1	3	0	1	S40697	97	UbC-polyubiquitin (2.8 kb transcript).
	455	141	3	3	0	10	X80699	96	M.musculus L26 mRNA.
	462	72	1	3	0	4	U08440	97	Mus musculus cytochrome c oxidase subunit VIa1 mRNA.
	853	127	0	3	0	6	X66449	96	M.musculus mRNA for calyculin.
	1032	370	0	3	0	0	X15963	97	Mouse mRNA for cytochrome c oxidase subunit Va.
	1146	354	0	3	0	3	M13964	91	Mouse stimulatory G protein of adenylate cyclase.
	3758	310	0	3	0	3	0		
	204	312	1	2	1	0	D10854	91	Rat mRNA for aldehyde reductase, complete cds.
	1030	426	0	2	3	2	D21252	98	Mouse mRNA for OSF-3, complete cds./Mouse mRNA for MSP23.
	799	166	0	2	1	2	D25213	92	Mouse mRNA for ribosomal protein S17.
	3478	99	0	2	0	0	L29441	99	Mus musculus mRNA, complete cds.
	367	114	1	2	0	0	M58758	87	Rat proton pump polypeptide mRNA, complete cds.
	84	359	2	2	7	1	X12812	96	Murine mRNA for macrophage ferritin heavy subunit.
	1130	433	0	2	3	15	X15267	99	Mouse mRNA for acidic ribosomal phosphoprotein P0.
	622	322	0	2	0	1	X16053	99	Mouse mRNA for thymosin beta-4.
	156	324	2	2	0	0	X51703	99	Mouse mRNA for ubiquitin.
	1287	87	0	2	0	1	X51707	99	Rat mRNA for ribosomal protein S19.
	441	94	1	2	4	2	X52940	100	Mouse COX7c1 mRNA for cytochrome c oxidase VIIC (EC 1.9.3.1).
	341	157	1	2	2	2	X54510	88	R.norvegicus mRNA for coupling factor 6 of mitochondrial ATP synthase complex.
	1002	409	0	2	0	0	X56469	97	Mouse HSA-A gene coding for heat stable antigen.
	4841	316	0	2	0	0	X82557	83	R.norvegicus MAL protein gene and mRNA.
	121	339	1	2	1	0	L75822	97	Mus musculus follistatin-like protein mRNA, complete cds.
	1881	171	0	2	1	0	U63323	96	Mus musculus translation initiation factor (Eif4g2) mRNA, complete cds.

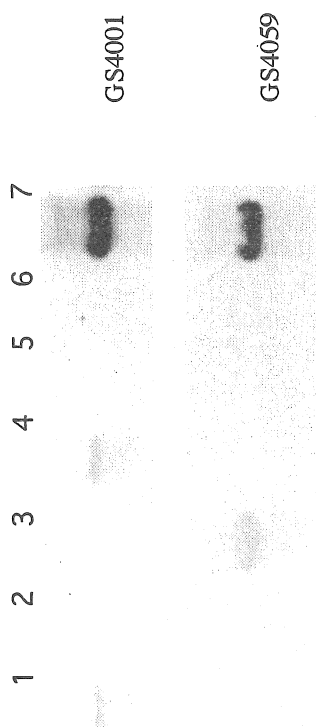


Fig.1. Northern blot analysis of GS4001 and GS4059.
Ten μ g of total RNA from various mouse tissue was applied to each lane: lung (*lane 1*), brain (*lane 2*), liver (*lane 3*), spleen (*lane 4*), muscle (*lane 5*), testis (*lane 6*) and kidney (*lane 7*). The filters were hybridized with 32 P-labeled probes of GS4001 and GS4059 whose sizes were approximately 2.1kb and 1.8kb, respectively.

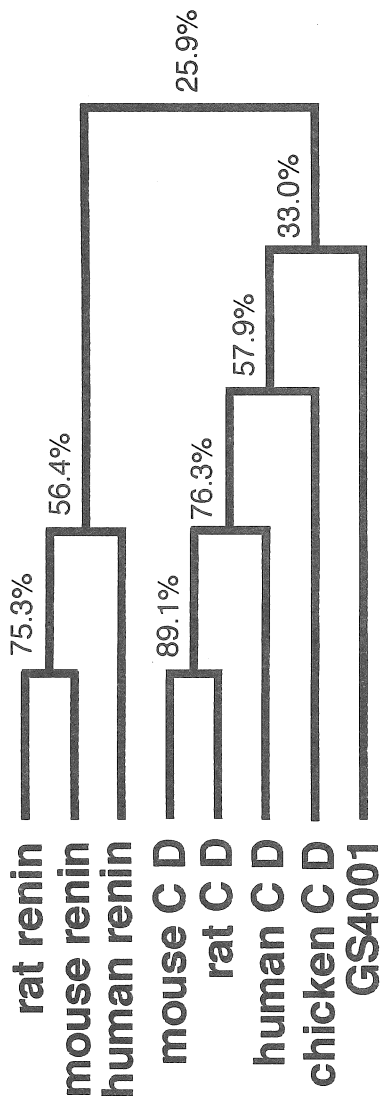


Fig. 2. Phylogenetic tree of GS4001, renin and cathepsin D (CD) cDNA sequences.

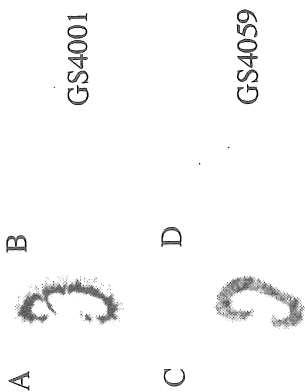


Fig. 3. In situ hybridization of GS4001 and GS4059 in mouse kidney. Panels A and B, Anti-sense and sense cRNA probes of GS4001, respectively. Panels C and D, Anti-sense and sense cRNA probes of GS4059, respectively.

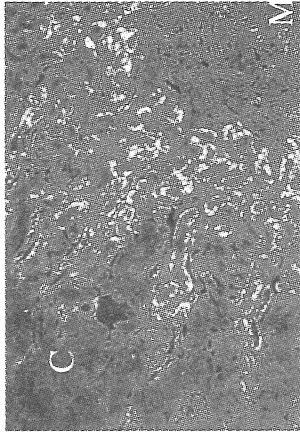


Fig. 4. In situ hybridization of GS4068 (mouse uroguanylin) in kidney using a DIG-labeled antisense probe. The sense probe showed no significant signal (data not shown). C, cortex; M, medulla. The signal was identified in the corticomedullary region (X100).Hybridization signals were seen as white grains.

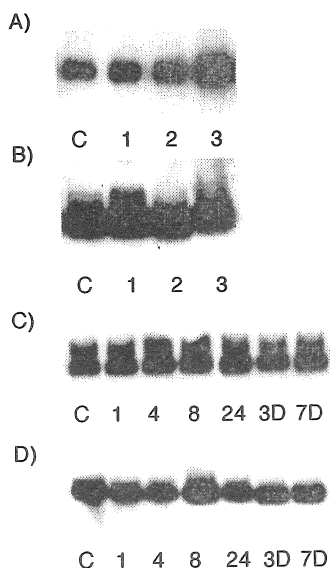


Fig.5. Effect of dehydration and intraperitoneal NaCl loading on GS4068 (mouse uroguanylin) mRNA in the kidney and intestine.

All mRNAs isolated from kidney (A and C) or intestine (B and D) were fractionated and Northern analysis was performed. Equal loading of mRNA samples were confirmed by the ethidium bromide staining of the gel (data not shown). Representative data are shown. In panels A (kidney) and B (intestine), C represents control (day 0); 1, 24-hr dehydration; 2, 48-hr dehydration; 3, 72-hr dehydration. The mRNA levels in kidney rose in dehydrated mice significantly after 72 hr of dehydration after the normalization by the intensity of ethidium bromide staining ($n=4$, 1.5 fold, dehydration group vs. control group, $p<.05$), but not in the intestine. In panels C (kidney) and D (intestine), C, 1, 4, 8 and 24 represent control (day 0), one hr, four hr, eight hr, twenty-four hr after intraperitoneal injection of 2M NaCl. Mice were administered NaCl intraperitoneally everyday for seven days and sacrificed on day 3 (3D) and 7 (7D). The mRNA expression was not significantly regulated by intraperitoneal NaCl loading in both tissues.

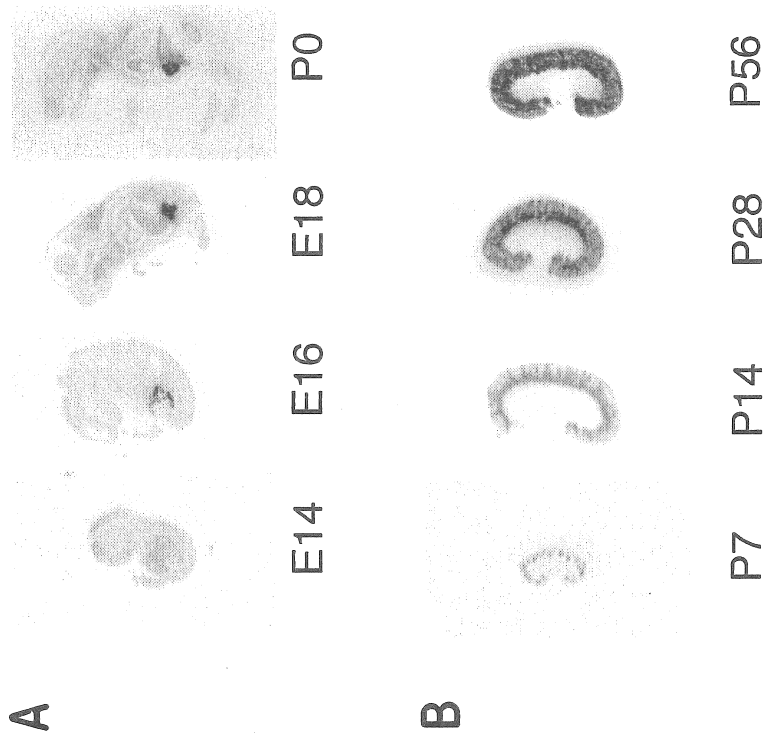


Fig. 6: In situ hybridization of mouse fetuses (A) whole body and neonatal kidney (B). A; We performed mouse whole body of fetuses on 14 (E14), 16 (E16) and 18 (18) days of gestation and on birth (P0). B; The postnatal mice kidneys were examined on day 7 (P7), 14 (P14), 28 (P28) and 56 (P56) days after birth.

Analyses of renal NaCl handling using gene expression profiles of mouse renal tubules.

Enyu Imai and Masaru Takenaka
Department of Internal Medicine and Therapeutics
Graduate School of Medicine, Osaka University

Kousaku Okubo
Institute for Molecular and Cellular Biology, Osaka University

Summary

An expression profile is a list based on a single pass sequences of 1000 or 2000 cDNA clones, demonstrating the genes expressed and the relative abundance of their transcripts in a given tissue. We constructed an expression profiles of mouse renal proximal tubules (PT) and inner medullary collecting ducts (IMCD) and compared the data with those of other cells and tissues.

Non-biased 3' end cDNA libraries from about 18cm of mouse PT and 20 cm of IMCD isolated by micro dissection method, were prepared. Single-pass sequence of randomly selected 1000 or 2000 cDNA clones was performed to collect the short sequences (about 250bp average) from poly (A), called gene signatures (GS). Identical sequences were joined as a single GS, and its occurrence was counted. The resulting list shows the expressed genes and their abundance.

First, by comparing the expression profile of PT with those obtained from other sources, several genes were identified only in PT. Two of the non-homologous genes were analyzed by Northern blotting and in situ hybridization, confirming that they were predominantly expressed in the kidney namely proximal tubules. The sequence analyses revealed that GS4001 was a new member of aspartic proteinases and GS 4059 was a novel gene. Another clone, GS4068, was cloned and identified as mouse uroguanylin (UG). UG has been postulated to regulate the salt and water secretion in the intestine as well as in the kidney. *In situ* hybridization demonstrated that it was located around the corticomedullary junction of the kidney. Seventy-two hours of dehydration induced the UG mRNA expression in the kidney but not in the intestine. Acute NaCl loading, however, did not induce its mRNA in the kidney as well as intestine. To examine its possible role(s) in the mouse developing and neonatal kidney, we performed *in situ* hybridization using whole body of fetuses on 14, 16 and 18 days of gestation (E14, E16, E18) and postnatal kidney on 0, 1, 7, 14 and 56 days after birth (P0, P1, P7, P14, P56), respectively. The hybridization signals have been detected in the intestine from E14 to E18, but not in the kidney from E14 up to P1. The signals, however, were increased markedly in the kidney after P14, mainly in the corticomedullary region. It was known that neonatal rodent had a tendency of negative Na balance because of the immature renal Na handling, suggesting that it may play a role in the maturation of Na handling in the neonatal kidney. The profile of IMCD showed that α B-crystallin was most abundant.

We constructed the expression profiles of renal PT and IMCD and showed that they were useful to analyze renal functions from molecular point of view.